



بررسی ارتباط بین سطح سرمی بیلی روبین با علائم رفتاری پارکینسونیسم القاء شده
توسط سم ۶-هیدروکسی دیپامین در موش صحرایی

Study of the association between serum level of Bilirubin and behavioral symptoms of ۶- hydroxydopamine induced Parkinsonism in rat



علوم پزشکی
قزوین



منابع



اطلاعات
تفضیلی



مجری و
همکاران



صفحه نخست
سامانه

چاپ
صفحه

مجریان: هاشم حق دوست یزدی ، نفیسه راستگو

کلمات کلیدی: بیلی روبین سم ۶-هیدروکسی دیپامین پارکینسونیسم



اطلاعات کلی طرح

| | |
|-------------------|--|
| کد طرح | ۱۴۰۰۲۲۸۳ |
| عنوان فارسی طرح | بررسی ارتباط بین سطح سرمی بیلی روبین با علائم رفتاری پارکینسونیسم القاء شده توسط سم ۶-هیدروکسی دیپامین در موش صحرایی |
| عنوان لاتین طرح | Study of the association between serum level of Bilirubin and behavioral symptoms of ۶-hydroxydopamine induced Parkinsonism in rat |
| کلمات کلیدی | بیلی روبین سم ۶-هیدروکسی دیپامین پارکینسونیسم |
| نوع طرح | |
| نوع مطالعه | |
| مدت اجراء - روز | ۱۲۰ |
| ضرورت انجام تحقیق | استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم های اصلی پاتوژنیک در بیماران پارکینسونی است و آنزیم هم اکسیداز، یکی از آنزیم های انتی اکسیدان به حساب می آید؛ علاوه بر این آنزیم از جمله آنزیم های موثر در تبدیل هم به بیلی روبین است. در مطالعه صورت گرفته در جهت ارزیابی سطح بیلی روبین به این نتیجه پی بردند که افزایش سطح بیلی روبین ممکن است به علت بیان بیش از حد آنزیم هم اکسیداز در پاسخ جبرایی به عوامل اکسیداتیو موجود در درجات مختلف بیماران پارکینسونی باشد. پاتوژنز بیماری پارکینسون به چندین عامل مختلف از جمله عوامل محیطی، ژنتیکی و مسیرهای متابولیکی بستگی دارد که در مطالعه صورت گرفته به این نتیجه رسیدند که سطح بیلی روبین در بیماران پارکینسونی کاهش و سطح بیلی وردین در آنها افزایش |

یافته است. تغییرات نسبت بین بیلی روبین به بیلی وردین ممکن است به دلیل عوامل استرس اکسیداتیو از جمله ناکارآمدی در پاکسازی رادیکال های آزاد باشد.

| | |
|---------------|--|
| هدف کلی | بررسی ارتباط بین سطح سرمی بیلی روبین با علائم رفتاری پارکینسونیسم القاء شده توسط سم ۶-هیدروکسی دیپامین در موش صحرایی |
| خلاصه روش کار | روش انجام این تحقیق شامل: ۱- جراحی استرئوتاکیک و تزریق سم ۶-هیدروکسی دیپامین ۲- انجام آزمون های رفتاری ۳- خونگیری ۴- اندازه گیری سطح سرمی بیلی روبین |

اطلاعات مجری و همکاران

| نام و نام خانوادگی | سمت در طرح | نوع همکاری | درجه تحصیلی | پست الکترونیک |
|--------------------|------------|------------|----------------|----------------------------|
| هاشم حق دوست یزدی | مجری | | دکتر - PHD | hhaghdoost@yahoo.com |
| زهرا باباشاوردی | همکار | | دانشجو | mahsashaverdi@gmail.com |
| محمد رضا ساروخانی | همکار | | دکترای تخصصی | sarokhanir.02@yahoo.com |
| نفیسه راستگو | مجری | | دکترای حرفه ای | nafis.rastgoo.20@gmail.com |

اطلاعات تفصیلی

| عنوان | متن |
|---|--|
| چکیده طرح | |
| پیشینه طرح | |
| فهرست کلی فصول | |
| هدف از اجرا | بررسی ارتباط بین سطح سرمی بیلی روبین با علائم رفتاری پارکینسونیسم القاء شده توسط سم ۶-هیدروکسی دیپامین در موش صحرایی نر بالغ |
| فرضیات یا سوالات پژوهشی | آیا ارتباطی بین سطح سرمی بیلی روبین با شدت چرخش های القاء شده با اپومرفین در پارکینسونیسم القاء شده توسط سم ۶-هیدروکسی دیپامین وجود دارد؟ آیا ارتباطی بین سطح سرمی بیلی روبین با شدت پیچش بدن بالارفته در پارکینسونیسم القاء شده توسط سم ۶-هیدروکسی دیپامین وجود دارد؟ آیا ارتباطی بین سطح سرمی بیلی روبین با زمان ماندن در میله گردان در آزمون روتارد در پارکینسونیسم القاء شده توسط سم ۶-هیدروکسی دیپامین وجود دارد؟ |
| چه موسساتی می توانند از نتایج طرح استفاده نمایند؟ | |
| در صورت ساخت دستگاه نظر صنعت و داوران | |
| کلید واژه های فارسی | بیلی روبین ، علائم رفتاری پارکینسونیسم ، سم ۶-هیدروکسی دیپامین ، موش صحرایی نر |
| روش پژوهش و تکنیک های اجرایی | روش انجام این تحقیق شامل: ۱- جراحی استرئوتاکیک و تزریق سم ۶-هیدروکسی دیپامین ۲- انجام آزمون های رفتاری ۳- خونگیری ۴- اندازه گیری سطح سرمی بیلی روبین ۱- جراحی استرئوتاکیک و تزریق سم ۶-OHDA. سم نوروتوکسیک ۶-OHDA (۱۵-۱۰-۶) میکروگرم حل شده در سالین حاوی ۲٪ درصد اسید اسکوربیک (به وسیله جراحی استرئوتاکیک |

به ناحیه دسته مغز جلویی میانی (MFB) تزریق می گردد. در این جراحی ابتدا حیوانات را با استفاده از کتامین/ زایلازین (۶۰/۶ mg/kg) بیهوش کرده و سپس در دستگاه استرئوتاکس قرار داده می شوند. در پوست سر یک برش طولی به اندازه ۲ سانتیمتر ایجاد شده و سطح استخوان اشکار می شود. سپس نقطه برگما مشخص شده و با استفاده از دستگاه استرئوتاکس و به کمک اطلس پاکسینوز و واتسون ۱۳ محل مورد نظر تزریق نشانه گذاری می گردد. سپس سطح جمجمه با مته دندانپزشکی سوراخ گردیده و با استفاده از سرنگ هاملتون تزریق سم ۶-OHDA به درون ناحیه مورد نظر به اهرستگی صورت می گیرد. سم ۶-OHDA سبب تخریب نورون های دپامینرژیک در جسم سیاه طرف تزریق شده و مدل پارکینسونی را ایجاد می نماید. ۲- آزمون های رفتاری: تزریق سم سبب تخریب نورون های دپامینرژیک جسم سیاه در همان طرف می گردد. علائم پارکینسون و شدت بیماری به وسیله ۳ آزمون رفتاری چرخش القاء شده به وسیله اپومرفین، آزمون پیچش بدن بالارفته و روتارود اشکار می گردد. ۱- آزمون چرخش القاء شده به وسیله اپومرفین: در قبال تزریق اپومرفین (۰.۵ mg/kg, i.p) موش ها چرخش هایی را در خلاف جهت محل تزریق نشان می دهند. تعداد این چرخشها در عرض یک ساعت نشان دهنده شدت بیماری می باشد. در این تحقیق تعداد چرخش بیش از ۳۰ چرخش در یک ساعت نشان دهنده بروز بیماری پارکینسون می باشد. ۲- آزمون پیچش بدن بالارفته (elevated body swing test, EBST). این آزمون بر طبق روش شرح داده شده توسط Borlongan و همکاران در سال ۱۹۹۵ و ۱۹۹۴ صورت می گیرد. به طور خلاصه دم موش از محدوده ۲ سانتی متری محل اتصال با بدن گرفته شده و به بالا آورده می شود به طوری که بینی حیوان ۲ سانتیمتر بالای سطح اتکا قرار گیرد. در این حالت حیوان بدن خود را به سمت راست یا چپ می پیچاند که تعداد این پیچش ها به هر طرف نشان دهنده شدت بیماری می باشد. در حیواناتی که بوسیله سم ۶-هیدروکسی دپامین پارکینسونی شده اند این پیچش ها عمدتاً به سمت مقابل محل تزریق سم می باشد. ۳- آزمون روتارود. آزمون روتارود توانایی اجرای فعالیت های حرکتی (motor performance) را مورد ارزیابی قرار می دهد. با کمک این آزمون هماهنگی حرکات، حفظ تعادل و مهمتر توانایی یادگیری حرکتی در حیوانات مورد ارزیابی قرار می گیرد. از این رو این آزمون روتارود، آزمون معتبر و قابل اعتمادی در بررسی اختلالات بخش هایی از سیستم عصبی که درگیر کنترل حرکات می باشند (مانند مخچه و بازال گانگلیا) می باشد. روش اجرای آن اصولاً برگرفته از روش معرفی شده توسط hamm et al., ۱۵ می باشد. به طور خلاصه، دستگاه روتارود شامل یک چارچوب پلاستیکی می باشد که در آن میله ای استوانه ای با قابلیت چرخش در سرعت های مختلف تعبیه شده اند که حیوان می تواند بر روی آن قدم بزند. در این آزمایش سرعت چرخش میله های استوانه ای به گونه ای تنظیم می شود که در یک فاصله زمانی ۹۰ ثانیه ای از ۵ دور بر ثانیه به ۴۰ دور بر ثانیه برسد. مدت زمانی که حیوان می تواند بر روی میله ها قدم بزند معیاری از توانایی اجرای حرکتی حیوان می باشد. این آزمون در ۳ روز پشت سرهم هر روز ۲ بار با فاصله زمانی حداقل ۱ ساعت (مجموعاً ۶ جلسه) انجام می شود. حیوانات سالم پس از چند جلسه به خوبی یاد می گیرند که بر روی میله ها در تمام مدت آزمون قدم زده، تعادل خود را حفظ کرده و از افتادن خود از دستگاه جلوگیری نمایند. از طرف دیگر حیوانات با اختلالات حرکتی مثلاً حیوانات پارکینسونی و یا حیوانات مبتلا به آتاکسیا در انجام این آزمون ضعیف عمل کرده و اجرای آن را یا یاد نمی گیرند و یا دیر یاد می گیرند. اثرات درمان و یا پیش درمان های مختلف بر روی این بیماری ها در این آزمون اشکار خواهد شد. آزمون های چرخشی و پیچشی در مدل حاد در هفته های دوم و چهارم پس از تزریق سم و آزمون روتارود در هفته پنجم انجام خواهد شد. خون گیری از دم حیوانات در حالت هوشیاری کامل انجام می شود. ابتدا حیوانات در وسیله ای به نام رسترینر قرار گرفته و

پس از مشخص نمودن محل ورید دمی با استفاده از اسکالپ وین خون جمع آوری می شود. پس از لخته شدن خون جمع آوری شده سانتریفیوژ شده و سرم حاصل جدا می شود. سرم تا زمان اندازه گیری بیلی روبین در ۲۰- درجه نگه داری می شود.

| | |
|---|---|
| دلائل ضرورت و توجیه انجام کار | بررسی ارتباط سطح سرمی بیلی روبین با شدت علائم رفتاری پارکینسونیسم القاء شده توسط سم ۶- هیدروکسی دپامین |
| کلید واژه های فارسی بازنگری شده | |
| فهرست منابع و مراجع علمی داخلی | |
| فهرست منابع و مراجع علمی خارجی | |
| خلاصه نتیجه اجرای طرح | |
| سابقه علمی طرح و پژوهش های انجام شده با ذکر مأخذ به ویژه در ایران | |
| خلاصه طرح طبق اهداف پیش بینی شده | |
| WhatRequirementsAreMet | |
| ملاحظات گروه | |
| ملاحظات ناظر | |
| HomeAddress | |
| WorkPlace | |
| جامعه مورد مطالعه و روش نمونه گیری | موش صحرایی نر بالغ اندازه گیری سطح بیلی روبین موجود در سرم: این عمل با استفاده از تکنیک الایزا (ELISA) و کیت مخصوص آن انجام می شود. |

بیان مسأله و بررسی متون

بیماری پارکینسون (PD) دومین بیماری شایع نورودژنراتیو بعد از بیماری آلزایمر است که ۳۲۵ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر به این بیماری مبتلا هستند. این بیماری بر اثر تخریب نورون های دوپامینرژیک واقع در بخش متراکم جسم سیاه (substantial nigra) بوجود می آید دوپامین نیز یک ماده شیمیایی است که پیامهایی را از جسم سیاه به مناطق حرکتی مغز ارسال می کند و حرکت را کنترل می کند. زمانی که در حدود ۶۰- ۸۰٪ این سلولها تخریب شوند و دوپامین به اندازه کافی تولید نشود علائم حرکتی بیماری پارکینسون ظاهر می شود. روش های درمانی معمول شامل دارو (L-DOPA, L-deprenyl...) و جراحی است. گرچه درمان با دارو L-DOPA بسیاری از علائم بیماری را برطرف می کند ولی پس از چند سال برخی علائم مجدداً عود می کنند که سبب پائین آمدن کیفیت زندگی می گردد (۴-۱). یک راه موثر برای درمان و یا جلوگیری از پیشرفت این بیماری تشخیص زودهنگام مرگ نورون های دوپامینرژیک هسته جسم سیاه می باشد. چنانچه مرگ این نورون ها در ابتدا و به موقع تشخیص داده شود می توان با اتخاذ استراتژی های درمانی و بهداشتی موثر از پیشرفت بیماری در همان ابتدا جلوگیری نمود. به منظور انجام این مهم استفاده از بیومارکرها می تواند یک راهکار موثر باشد. بیومارکر یک ماده قابل ردیابی درون یک ارگانیسم است که به عنوان وسیله ای برای بررسی عملکرد اعضای آن استفاده می گردد. وجود یک بیومارکر در بدن ممکن است نشان دهنده یک بیماری خاص باشد و این کاربرد دیگر بیومارکر است، مثلاً، وجود یک آنتی بادی در بدن ممکن است نشان دهنده یک عفونت در بدن باشد (۵) استرس اکسیداتیو ممکن است باعث ایجاد یک سری از اختلالات پاتوفیزیکی از جمله بیماری های نورودژنراتیو شود. یکی از عوامل ایجاد کننده استرس اکسیداتیو، بیلی روبین توتال است که در بررسی به عمل آمده با بیماری پارکینسون به این نتیجه رسیده اند که اثرگذاری آن متناسب با سن است به گونه ای که با

افزایش سن میزان آسیب ناشی از بیلی روبین در بیماران افزایش پیدا می کند؛ علت آن نیز، افزایش آسیب های DNA به دلیل عدم ترمیم کاربردی DNA و پراکسیداسیون پروتئین در بیماران پارکینسونی است. (۶) استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم های اصلی پاتوژنیک در بیماران پارکینسونی است و آنزیم هم اکسیداز، یکی از آنزیم های انتی اکسیدان به حساب می آید؛ علاوه بر آن این آنزیم از جمله آنزیم های موثر در تبدیل هم به بیلی روبین است. در مطالعه صورت گرفته در جهت ارزیابی سطح بیلی روبین به این نتیجه پی بردند که افزایش سطح بیلی روبین ممکن است به علت بیان بیش از حد آنزیم هم اکسیداز در پاسخ جبرایی به عوامل اکسیداتیو موجود در درجات مختلف بیماران پارکینسونی باشد. (۷) پاتوژنز بیماری پارکینسون به چندین عامل مختلف از جمله عوامل محیطی، ژنتیکی و مسیرهای متابولیسمی بستگی دارد که در مطالعه صورت گرفته به این نتیجه رسیدند که سطح بیلی روبین در بیماران پارکینسونی کاهش و سطح بیلی روبین در آنها افزایش یافته است. تغییرات نسبت بین بیلی روبین به بیلی روبین ممکن است به دلیل عوامل استرس اکسیداتیو از جمله ناکارآمدی در پاکسازی رادیکال های آزاد باشد. (۸) در مطالعه ای که به مدت ۲ سال انجام شده؛ به این نتیجه رسیدند هرچند ارتباطی بین سطح بیلی روبین با اختلالات سیستم های حرکتی وجود ندارد ولی سطح بیلی روبین در بیماران با درجه های اولیه بیماری پارکینسون افزایش می باید، به همین دلیل سطح سرمی بیلی روبین را میتوان به عنوان یک بیومارکر برای تشخیص و پیشرفت بیماری پارکینسون در نظر گرفت چون بیلی روبین در مغز به عنوان یک عامل استرس اکسیداتیو عمل می کند. (۹) یکی از اثبولوژی های بیماری پارکینسون، آسیب های اکسیداتیو ناشی از رادیکال های آزاد می باشد که در مطالعه صورت گرفته به این نتیجه رسیدند که بیماران پارکینسونی که مدت طولانی داروی لوودوپا را دریافت می کنند سطح استرس اکسیداتیو در آنها افزایش می یابد؛ که به طبع سطح بیلی روبین نیز افزایش یافته است. البته مکانیسم افزایش سطح بیلی روبین در بیمارانی که لوودوپا را به عنوان یک درمان دارویی برای بیماران پارکینسونی استفاده می کنند، هنوز مشخص نشده است. (۱۰)



منابع

Dauer W. and Przedborski, S., Parkinson's Disease: Mechanisms-1 and Models. *Neuron* (2003), 39: 889–909

Przedborski S., Pathogenesis of nigral cell death in Parkinson's -2 disease. *Parkinsonism and Related Disorders* (2005), 11: S3–S7

Tsang A.H.K and Chung K.K.K., Oxidative and nitrosative stress in-3 Parkinson's disease. *Biochimica et Biophysica Acta* (2009), 1792: 643–650

Mathie A, Wooltorton JR, Watkins CS. Voltage-activated potassium --4 channels in mammalian neurons and their block by novel pharmacological agents, *Gen Pharmacol*, 30 (1998) 13-24

wikipedia-5

Bolner A, Micciolo R, Bosello O, Nordera GP: A Panel of Oxidative ..6 Stress Markers in Parkinson's Disease. *Clin Lab*. 2016;62(1-2):105-12

Moccia M1, Picillo M, Erro R, Longo K, Amboni M, Santangelo G, .7
Palladino R, Allocca R, Caporale O, Triassi M, Pellecchia MT, Barone P,
Vitale C: Increased bilirubin levels in de novo Parkinson's disease.Eur J
.Neurol. 2015 Jun;22(6):954-9. doi: 10.1111/ene.12688. Epub 2015 Mar 5

Hatano T1, Saiki S1, Okuzumi A1, Mohny RP2, Hattori N: Identification.8
.of novel biomarkers for Parkinson's disease by metabolomic technologies
J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2016 Mar;87(3):295-301. doi:
.10.1136/jnnp-2014-309676. Epub 2015 Mar 20

By Kirsty Oswald, medwireNews Reporter:Bilirubin levels raised in .9
newly diagnosed Parkinson's disease;Published on April 7, 2015 at 5:15
· PM

:Scigliano G1, Girotti F, Soliveri P, Musicco M, Radice D, Caraceni T .10
Increased plasma bilirubin in Parkinson patients on L-dopa: evidence
against the free radical hypothesis? ;Ital J Neurol Sci. 1997 Apr;18(2):69-
.72
